

KAJIAN PENGARUH SEL IMOBIL *Arthrobacter* NRRL B-3728 TERHADAP AKTIVITAS DAN STABILITAS ENZIM GLUKOSA ISOMERASE

Triantarti ✉ dan Hendro Santoso M
Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia
Jl. Pahlawan 25 Pasuruan 67126
E-Mail: isri@telkom.net

ABSTRACT

This project focused on the immobilization of glucose isomerase (GI) from *Arthrobacter* B-3728. The whole cells immobilization technique using glutaraldehyde and gelatine type B220 was used in this research. The optimum time for harvesting *Arthrobacter* cells was determined before immobilization. The *Arthrobacter* cells were harvested after 56-72 h fermentation when the GI activity reaching 0.515-0.603 U/ml broth. The best treatment for cell immobilization was found using 5% gelatine when the GI activity reaching 0.888 U/ g immobilized cells. The optimum pH was not changed (pH 8) but the sensitivity to the pH was changed for immobilized cells compared to the free cells. However, the stability of the immobilized cells was lower compared to the free cells for long isomerization process. Further research are still needed for the development of immobilization technique for *Arthrobacter* B-3728.

Kata kunci/Key words: Sel imobil/ immobile cells, *Arthrobacter*, Enzim glukosa isomerase/ Glucose isomerase enzyme.

PENDAHULUAN

Produksi gula nasional sejak lima tahun terakhir ini mengalami penurunan yang cukup berarti sehingga kebutuhan gula nasional harus dipasok dengan gula impor sekitar 1,5 juta ton (Kartasmita, 1999). Hal tersebut menggambarkan semakin meningkatnya kebutuhan gula, baik untuk konsumsi langsung maupun untuk keperluan industri pengolahan makanan dan minuman. Untuk itu dengan adanya upaya diversifikasi produk untuk pemanis dalam menunjang kebutuhan gula nasional merupakan alternatif yang sangat mendesak. Salah satu produk diversifikasi pemanis adalah Sirup Fruktosa Tinggi yang pasarnya terus meningkat terutama di kawasan Asia dan Amerika Latin dengan konsumsi pasar sebesar 13,3 juta ton (Susmiadi, 1996). Di Indonesia pada saat ini terdapat 6 pabrik sirup fruktosa berbahan baku ubi kayu dengan kapasitas produksi sekitar 200.000 ton per tahun sedangkan potensi penggunaan sirup fruktosa untuk industri makanan dan minuman diperkirakan sekitar 300.000 ton (Kurniawan, 1998).

Pembuatan sirup fruktosa dilakukan melalui beberapa tahapan proses yaitu proses klarifikasi dan inversi bahan, proses separasi kromatografi dan isomerisasi. Pada tahap proses isomerisasi dapat digunakan Glucose Isomerase/ Glukosa Isomerase (GI) yaitu sejenis enzim intraseluler yang mampu

mengubah substrat D-Glucose menjadi D-Fructose (Bhosale *et al.*, 1996). Beberapa produk GI yang diimobilisasi telah diproduksi secara komersial antara lain Sweetzym T yang diproduksi oleh NOVO-Denmark dari strain *Streptomyces murinus*. Imobilisasi adalah suatu cara pengikatan aktivitas katalitik sel atau enzim dalam suatu sistem reaktor yang dapat digunakan berulang-ulang dan kontinyu (Knor and Basel, 1987; Katchalski dan Katzir, 1993). Produk komersial ini cukup mahal apabila harus diimpor dari luar negeri, terutama dengan semakin menurunnya nilai rupiah terhadap dollar; sehingga diperlukan penelitian di Indonesia untuk bisa mengembangkan GI yang diimobilisasi yang bisa digunakan secara komersial. Teknik imobilisasi sel yang mengandung GI telah banyak dilakukan. Devos *et al.* (1979) menggunakan teknik imobilisasi dengan mencampurkan gelatin ke dalam sel yang mengandung GI dari *Streptomyces violaceoniger* dihubungkan-silangkan dengan glutaraldehid.

Penelitian ini merupakan suatu kajian imobilisasi sel *Arthrobacter* sp. dan pengaruhnya terhadap aktivitas dan stabilitas enzim GI yang dihasilkan bakteri tersebut. Sel *Arthrobacter* sp. NRRL B 3728 dipilih untuk digunakan dalam penelitian ini, karena media untuk pertumbuhan selnya menggunakan glukosa dan tidak menggunakan xylosa seperti umumnya mikroba

penghasil GI. Seperti diketahui glukosa jauh lebih murah jika digunakan sebagai sumber karbon dalam media fermentasi dibanding xylosa.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Dalam percobaan ini digunakan strain *Arthrobacter* sp. NRRL B 3728. Untuk pembuatan media digunakan ekstrak khamir (yeast) teknis, glukosa teknis, amonium sulfat, kalium dihidrogen fosfat, magnesium sulfat pentahidrat dan agar. Bahan untuk imobil digunakan gelatin tipe B 220 dan glutaraldehid 25%. Selain itu digunakan buffer fosfat pH 7,5 dan bahan kimia untuk analisis laboratorium seperti glukosa mono hidrat, L-cystein, carbazole, cobalt klorida, etanol absolut, natrium hidroksida dan asam klorida.

Metode

Penelitian ini dilakukan melalui tiga tahap yaitu produksi sel *Arthrobacter* sp. NRRL B 3728, imobilisasi sel *Arthrobacter* sp. NRRL B 3728, serta aktivitas dan stabilitas GI dari sel imobil.

1. Produksi sel *Arthrobacter* sp. NRRL B 3728

a. Pembuatan medium fermentasi

Dilakukan pembuatan media fermentasi dengan komposisi (b/v): ekstrak khamir 0,75 %, magnesium sulfat pentahidrat 0,01%, kalium dihidrogen fosfat 0,30%, diamonium sulfat 0,60% dan glukosa monohidrat 1,0%.

Prosedur pembuatan adalah sebagai berikut: larutan A yang terdiri dari ekstrak khamir, magnesium sulfat, kalium dihidrogen fosfat, diamonium sulfat dan 2500 ml aquades dimasukkan ke dalam beaker glass 3000 ml. Komponen dilarutkan dengan menggunakan *stirer* sampai terlarut sempurna, kemudian ditera sampai volume 2700 ml. Ke dalam beaker glass 500 ml, dibuat larutan B yaitu glukosa monohidrat dengan 250 ml aquades lalu distirer sampai larut sempurna. Kemudian larutan ditera sampai 300 ml. Larutan A dan B ditera pH-nya sampai netral dengan menggunakan asam atau basa. Ke dalam dua erlenmeyer 5 liter, masing-masing dimasukkan 1300 ml larutan A dan masing-masing

150 ml larutan B ke dalam dua erlenmeyer 250 ml. Semua erlenmeyer ditutup dengan kapas berlemak, dibungkus kertas lilin lalu disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit. Larutan A dan B dicampurkan secara aseptik untuk siap digunakan.

b. Pembuatan media prakultur

Dilakukan pembuatan media prakultur dengan komposisi (b/v): ekstrak khamir 0,75 %, magnesium sulfat pentahidrat 0,01%, kalium dihidrogen fosfat 0,30%, diamonium sulfat 0,60% dan glukosa monohidrat 1,0%.

Prosedur pembuatan adalah sebagai berikut: ekstrak khamir, glukosa monohidrat, magnesium sulfat, amonium sulfat dilarutkan dengan aquades sebanyak 50 ml dalam gelas beaker 500 ml. Larutan ditetapkan pada pH 7, kemudian ditera hingga 100 ml dan disterilisasi pada suhu 121 °C selama 15 menit. Kemudian medium prakultur didinginkan, dan diinokulasikan satu ose *Arthrobacter* sp. NRRL B 3728 dari agar miring dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang dengan cara digoyang pada alat *shaker* dengan kecepatan 120 rpm.

c. Pengamatan pertumbuhan *Arthrobacter* sp. NRRL B3728

Sebanyak 5% (b/v) larutan prakultur (1b) diinokulasikan ke dalam medium fermentasi segar (1a) dan diinkubasi pada suhu ruang dengan cara digoyang menggunakan *shaker* pada 120 rpm. Fermentasi dilakukan dengan menggunakan 7 erlenmeyer (250 ml) yang berisi masing-masing 100 ml larutan. Diamati 7 erlenmeyer tersebut untuk parameter pertumbuhan sel dengan pengukuran OD pada $\lambda = 900$ nm, guna mengukur aktivitas GI dan pH masing-masing pada jam ke 0, 24, 28, 48, 56, 72 dan 80.

2 Imobilisasi sel *Arthrobacter* sp. NRRL B 3728

a. *Preparasi sel untuk imobilisasi.* Pembuatan konsentrasi sel 10% adalah sebagai berikut: ditimbang 2 gram endapan sel basah lalu diencerkan dengan menggunakan buffer fosfat 0,05 M pH 7,5 yang mengandung 0,0493 % (b/v) $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ sampai 9,4 ml dan diaduk sampai homogen.

b. *Imobilisasi menggunakan konsentrasi sel 10%.* Digunakan konsentrasi sel 10% (2a) dan dilakukan pembuatan sel imobil dengan variasi gelatin tipe B

masing-masing pada konsentrasi 2,5%, 3,75%, 5% dan 6,25% (b/v) dan larutan buffer fosfat (seperti 2a). Setelah campuran homogen, ditambahkan glutaraldehid 25% sebesar 3% (v/v) dengan pengadukan yang cepat sampai terbentuk gel. Dibiarkan selama 1 jam lalu dicacah dengan ukuran 5 mm dan dicuci sebanyak dua kali 300 ml buffer fosfat (2a), kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 40-45°C sampai kadar air yang dapat dicapai sekitar 15-20%. Hasil pengeringan diblender dan disaring dengan ukuran mesh 12-30 mesh.

3. Aktivitas dan stabilitas GI dari sel imobil

a. Uji terhadap konsentrasi gelatin.

Untuk uji aktivitas dan stabilitas GI dilakukan proses isomerisasi menggunakan substrat glukosa 5%. Sebanyak 0,1 gram sel imobil ditambahkan ke dalam 1 ml glukosa 5% (b/v) dalam buffer fosfat (1a). Dilakukan pengkondisian selama 1 jam, kemudian diinkubasikan pada 60°C selama 5 jam. Dilakukan analisis fruktosa yang terbentuk pada jam ke 1,3 dan 5 dengan metode cystein carbazole. Penyimpanan dilakukan dalam *cool room* (4°C).

Proses isomerisasi dilanjutkan hingga hari ke lima dengan sampel dan substrat yang sama. Sel imobil yang diuji adalah menggunakan konsentrasi gelatin 2,5%, 3,75%, 5% dan 6,25% (b/v). Satu unit aktivitas glukosa isomerase dinyatakan sebagai jumlah enzim yang menghasilkan satu mikro ml fruktosa tiap menit pada kondisi yang telah ditetapkan (Hutasoit, 1985).

b. Uji terhadap pengaruh pH substrat.

Untuk uji ini digunakan substrat glukosa 5% dan pH bervariasi pada pH 7, 7,5, 8 dan 8,5 sedangkan bentuk sel bebas menggunakan 1 ml konsentrasi sel 2% (b/v) dan 0,1 g bentuk imobil pada konsentrasi gelatin yang optimum. Kondisi proses isomerisasi seperti dilakukan pada poin 3a. Dalam percobaan ini digunakan pula uji aktivitas terhadap GI komersial dari NOVO Sweetzyme T sebagai pembandingan.

ke 80 disajikan pada Tabel 1, meliputi data pengamatan pertumbuhan sel (OD_{540}), aktivitas GI dan perubahan pH medium; pada Gambar 1a, dan 1b menunjukkan kurva perubahan pertumbuhan sel, aktivitas GI dan pH medium yang diamati dari jam ke 0 hingga jam ke 80.

2. Aktivitas dan stabilitas GI dari sel imobil *Arthrobacter* sp. NRRL-B 3728

a. Pengaruh konsentrasi gelatin

Data pengaruh variasi konsentrasi gelatin 2,5%, 3,75%, 5% dan 6,25% terhadap aktivitas GI yang dihasilkan oleh sel imobil disajikan pada Tabel 2, sedangkan Gambar 2 menunjukkan peningkatan aktivitas GI dari konsentrasi gelatin 2,5-5% dan setelah itu aktivitas GI cenderung menurun.

Gambar 3 memperlihatkan kandungan fruktosa yang terbentuk oleh GI dari sel imobil *Arthrobacter* sp. NRRL-B 3728 sedangkan data hasil pengamatan disajikan pada Tabel 3.

b. Pengaruh pH substrat

Pada Gambar 4 disajikan pengaruh pH substrat yaitu pada pH 7, 7,5, 8,0 dan 8,5 terhadap aktivitas GI. Pada Gambar 5a dan 5b disajikan hasil uji stabilitas GI dari *Arthrobacter* sp. NRRL-B 3728 dalam bentuk sel imobil dan sel bebas sedangkan pada Gambar 5c, disajikan hasil uji stabilitas GI dari Sweetzyme T (NOVO) sebagai pembandingan.

PEMBAHASAN

1. Produksi sel *Arthrobacter* sp. NRRL-B 3728

Pertumbuhan sel dapat dilihat dari semakin meningkatnya nilai OD_{540} mulai fermentasi jam ke 0 hingga jam ke 72 (Tabel 1 dan Gambar 1a). Peningkatan nilai OD_{540} menggambarkan populasi sel yang tumbuh (Volk and Wheeler, 1993). Tampaknya pertumbuhan berlangsung antara fermentasi jam ke 0 hingga jam ke 72; hal ini disebabkan karena nutrisi pada saat itu diperkirakan masih cukup tersedia untuk kebutuhan pertumbuhan sel sedangkan setelah 72 jam sudah memasuki fase stasioner yaitu fase di mana pertumbuhan sudah optimal karena nutrisi sudah tidak cukup lagi untuk menunjang proses pembelahan sel. Fenomena ini sangat lazim karena tanpa adanya penambahan substrat maka pertumbuhan mikrobial tidak dapat dipertahankan dengan adanya fungsi waktu (Said, 1987).

HASIL

1. Produksi sel *Arthrobacter* sp. NRRL B 3728

Produksi sel yang diperoleh dari hasil fermentasi pada pengamatan mulai jam ke 0, 24, 28, 48, 56, 72 hingga

Pada umumnya semakin meningkatnya pertumbuhan populasi sel akan diikuti dengan pembentukan produk metabolit primer. Pertumbuhan sel meningkat maka produk metabolit juga meningkat. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 1 a, bahwa aktivitas GI sebagai produk metabolit primer semakin meningkat seiring dengan meningkatnya pertumbuhan sel *Arthrobacter* sp. NRRL-B 3728. Aktivitas GI optimal yang dapat dicapai sebesar 0,603 U per ml broth pada jam ke 72 di saat pertumbuhan sel pun mencapai tingkat optimal (Gambar 1a), sehingga waktu pemanenan yang baik dapat dilakukan mulai jam ke 56 yang sudah mencapai aktivitas GI sebesar 0,515 U per ml broth. Hal ini diduga terjadi karena di atas 72 jam, sel mengalami fase stasioner dimana pada fase ini limbah metabolisme cenderung meningkat dan mengganggu pertumbuhan sel. Pada waktu itu terjadi pula sel yang mengalami lisis sehingga menyebabkan

beberapa metabolit primer mengalami hambatan misalnya pembentukan GI (Volk and Wheeler, 1993).

Sementara itu peningkatan perubahan pH pada fermentasi jam ke 80 yaitu dari pH 6,96 menjadi 7,42 disebabkan oleh kegiatan sel menghasilkan produk yang menyebabkan pH medium meningkat karena tingginya konsentrasi nitrogen dalam medium fermentasi (Gambar 1b). Hal tersebut terjadi seperti penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Hutasoit (1985) bahwa peningkatan konsentrasi yeast extract sebagai sumber nitrogen dalam medium fermentasi *Bacillus stearothermophilus* menyebabkan terjadinya peningkatan pH pada akhir fermentasi. Dari hasil uraian di atas maka berdasarkan pertumbuhan populasi sel *Arthrobacter* sp. NRRL-B 3728 dan aktivitas enzim GI yang dihasilkannya maka dapat diketahui bahwa waktu panen sel optimum dilakukan pada fermentasi jam ke 56 hingga jam ke 72 (Gambar 1a dan Tabel 1).

Tabel 1. Data pengamatan pertumbuhan *Arthrobacter* sp. NRRL B 3728, aktivitas GI yang dihasilkan dan pH medium selama fermentasi.

Waktu Pengamatan (jam)	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rerata
Pertumbuhan sel (OD _{900nm})				
0	0,007	0,004	0,004	0,005
24	0,211	0,208	0,201	0,206
28	0,268	0,229	0,240	0,246
48	0,305	0,301	0,301	0,302
56	0,357	0,314	0,301	0,324
72	0,398	0,357	0,362	0,372
80	0,398	0,357	0,362	0,372
Aktivitas GI				
0	0	0	0	0
24	0,139	0	0	0,046
28	0,140	0,091	0	0,077
48	0,145	0,554	0,509	0,403
56	0,440	0,596	0,510	0,515
72	0,601	0,607	0,602	0,603
80	0,189	0,598	0,786	0,524
pH Medium				
0	6,72	7,00	7,00	6,91
24	7,20	7,70	7,13	7,17
28	7,24	7,22	7,22	7,23
48	7,32	7,35	7,37	7,35
56	7,23	7,30	7,30	7,28
72	7,17	7,32	7,28	7,26
80	7,15	7,56	7,56	7,42

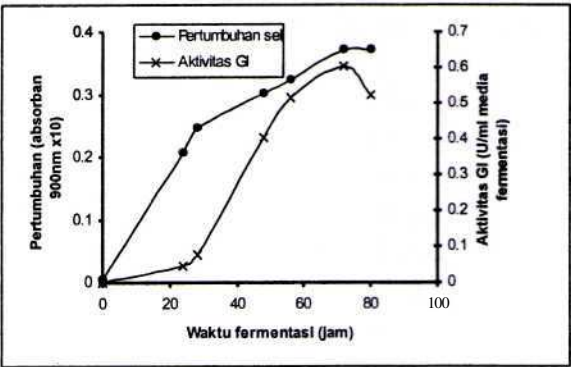
Tabel 2. Pengaruh konsentrasi gelatin terhadap aktivitas GI dari sel imobil *Arthrobacter* sp. NRRL-B 3728

% Gelatin	Aktivitas GI (Unit per gram sel imobil)
2,50	0,342
3,75	0,587
5,00	0,888
6,25	0,799

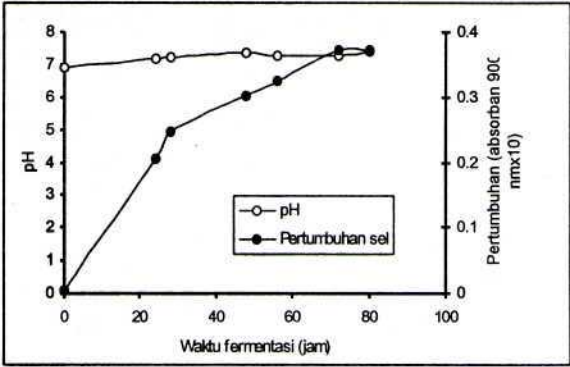
Keterangan: Satu unit aktivitas glukosa isomerase dinyatakan sebagai jumlah enzim yang menghasilkan satu mikro mol fruktosa tiap menit di bawah kondisi yang telah ditetapkan.

Tabel 3. Stabilitas GI dari sel imobil *Arthrobacter* sp. NRRL-B 3728 dengan variasi konsentrasi gelatin pada 5 jam isomerisasi

Sampel hari ke	Fruktosa (ppm) Gelatin 2,5%	Fruktosa (ppm) Gelatin 3,75%	Fruktosa (ppm) Gelatin 5%	Fruktosa (ppm) Gelatin 6,25%
1	1131,42	2582,80	3589,91	3632,11
2	953,67	1342,43	1474,08	1183,26
3	589,70	922,08	1557,34	1253,44
4	0	364,91	401,15	261,01
5	0	69,73	388,53	193,12



Gambar 1a. Pertumbuhan sel dan aktivitas GI dari *Arthrobacter* sp. NRRL B 3728 selama fermentasi.



Gambar 1b. Pertumbuhan sel dari *Arthrobacter* sp. NRRL B 3728 dan pH medium selama fermentasi.

2. Aktivitas dan stabilitas GI dari sel imobil *Arthrobacter* sp. NRRL-B 3728

a. Pengaruh konsentrasi gelatin

Pada Gambar 2 dan Tabel 2 dapat dilihat bahwa semakin meningkat konsentrasi gelatin yang digunakan maka semakin banyak jumlah sel yang

terikat sehingga jumlah enzim dan aktivitas enzim dalam sel juga meningkat. Pada konsentrasi gelatin di atas 5%, aktivitas GI mulai mengalami penurunan dan hal tersebut disebabkan oleh konsentrasi gelatin diatas 5% akan menghasilkan ikatan-ikatan kovalen yang dibentuk diantara sisi aktif pada

permukaan sel - gelatin dan glutaraldehid (Chibata, 1978). Ikatan kovalen yang semakin banyak mengakibatkan luas permukaan sel semakin kecil sehingga difusi substrat glukosa dalam sel juga semakin kecil. GI dalam sel dapat mengisomerisasi glukosa menjadi fruktosa dengan baik hanya jika substrat tersedia dan tidak terhambat berdifusi ke dalam sel. Pada Gambar 3, dapat dilihat bahwa kandungan fruktosa yang terbentuk oleh GI dari sel imobil mengalami kecenderungan menurun sampai dengan hari ke 5. Hal ini berarti stabilitas GI dari hari ke hari mengalami penurunan. Kadar fruktosa terbentuk menggambarkan kemampuan GI dari sel imobil melakukan isomerisasi terhadap substrat glukosa.

Dari hasil ini ternyata kestabilan aktivitas GI dipengaruhi oleh gelatin sebagai senyawa penjerat yang membentuk ikatan kovalen dengan sel dan glutaraldehid dalam proses imobilisasi sel sehingga sisi aktif dari sel dan struktur permukaan sel berubah mengakibatkan substrat glukosa mempunyai kemampuan yang rendah melewati membran sel. Fakta menyebutkan bahwa sel imobil yang menggunakan senyawa penjerat dengan *cross linking agent* seperti glutaraldehid akan menghasilkan ikatan secara kovalen pada sisi aktif sel (enzim) sehingga menyebabkan aktivitas sel berubah. Selain itu perubahan stabilitas dan rendahnya aktivitas enzim dari sel dalam bentuk imobil diakibatkan juga oleh terjadinya perubahan konformasi dari enzim ketika terikat oleh bahan penjeratnya serta pengaruh dari gugus fungsional asam amino esensial di pusat aktif enzim dalam proses pengikatan sel oleh bahan penjerat (Chibata, 1978).

Dari hasil ini dapat diperoleh gambaran bahwa pada konsentrasi gelatin 5% dihasilkan aktivitas GI dari sel imobil yang optimum yaitu sebesar 0,888 U per gram sel imobil (Gambar 2). Stabilitas aktivitas GI dari sel imobil cenderung lebih optimal pada konsentrasi gelatin 5% (Gambar 3).

b. Pengaruh pH substrat

Gambar 4 menunjukkan bahwa pada substrat glukosa pH 8, aktivitas GI dalam bentuk sel bebas dan sel imobil mencapai optimum masing-masing sebesar 7,298 U per gram sel basah dan 2,599 U per

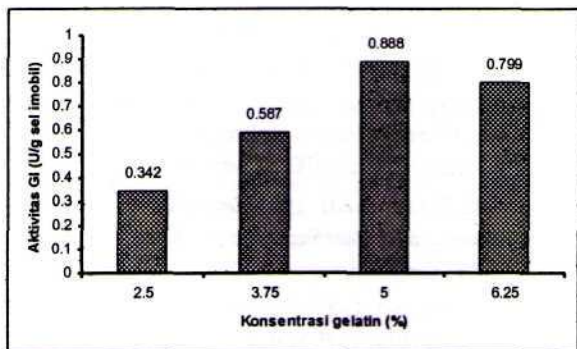
gram sel imobil pada proses isomerisasi hari pertama selama 3 jam. Hal ini menunjukkan bahwa bentuk imobil menggunakan konsentrasi gelatin 5% ternyata tidak mengakibatkan terjadinya perubahan pH optimum GI. Menurut Lee *et al.* (1972) bahwa aktivitas GI optimum *Arthrobacter* sp. NRRL B 3724, B 3726, B 3728 dicapai pada pH 8 dan suhu isomerisasi 60 °C. Sebaliknya tampak perubahan sensitivitas terhadap perubahan pH antara sel bebas dan setelah imobilisasi. Hal ini mungkin disebabkan karena terjadinya perubahan pada sisi aktif enzim akibat proses imobilisasi.

Gambar 5a dan 5b memperlihatkan kadar fruktosa yang terbentuk pada proses isomerisasi hari ke 5 oleh GI dalam bentuk sel bebas dan sel imobil yang memperlihatkan kecenderungan menurun. Walaupun demikian, aktivitas GI dalam bentuk sel bebas terlihat lebih stabil dibandingkan dengan sel imobil (Gambar 5a, 5b). Hal ini diduga karena adanya pelepasan sejumlah sel yang terikat lemah di bagian luar matriks sel imobil sehingga jumlah sel di dalamnya semakin berkurang dan mengakibatkan aktivitas GI semakin menurun. Imobilisasi sel menggunakan gelatin dan glutaraldehid dalam penelitian ini menghasilkan aktivitas.

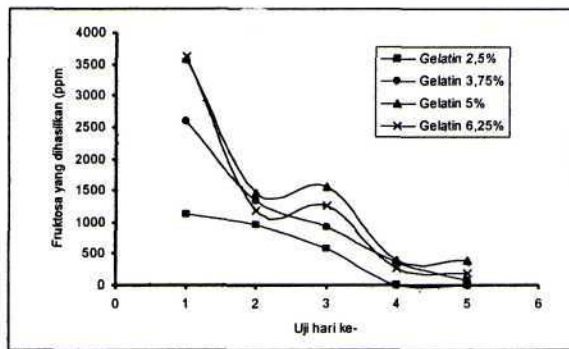
Selain itu, stabilitas imobilisasi enzim dipengaruhi oleh karakteristik fisik dan kimia dari matriks pengikatnya serta perubahan kimia enzim karena adanya ikatan kovalen antara enzim dan matriks pengikatnya (Olson and Richardson, 1974). Stabilitas GI dari sel bebas cenderung lebih baik dibandingkan dengan sel imobil, namun demikian GI dari sel bebas memiliki kepekaan yang tinggi terhadap pH substrat dibandingkan jika dalam bentuk sel terimobil (Gambar 4). Hal tersebut diduga karena adanya perbedaan pH di luar dan di dalam sel sehingga menghasilkan perbedaan muatan antara sel dan sekelilingnya. Kondisi tersebut menyebabkan terjadinya perubahan sisi aktif sel bebas sehingga mempengaruhi difusi substrat ke dalam sel. Pada sel imobil, adanya ikatan antara sel, gelatin dan glutaraldehid dapat menghasilkan muatan-muatan yang dapat menetralkan pH yang ada di luar matriks sel imobil sehingga enzim di dalam sel cenderung lebih stabil (Olson and Richardson, 1974). Untuk proses isomerisasi sistem

batch dalam penelitian ini, digunakan pula sebagai pembanding GI komersial yaitu NOVO Sweetzyme T. Hasil percobaan menunjukkan bahwa aktivitas GI pada beberapa variasi pH dari substrat glukosa 5% yang digunakan, memiliki kecenderungan yang stabil hingga hari ke lima (Gambar 5c).

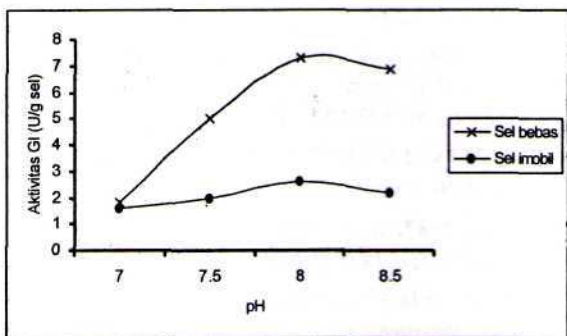
Penelitian lanjutan masih diperlukan untuk pengembangan teknik imobilisasi GI yang sesuai untuk sel *Arthrobacter* sp. NRRL-B 3728 sehingga dihasilkan produk GI hasil imobil yang stabil dan bisa digunakan untuk proses isomerisasi dalam waktu yang panjang.



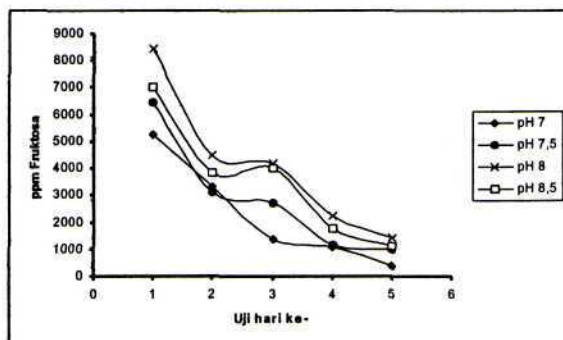
Gambar 2. Pengaruh konsentrasi gelatin terhadap aktivitas GI dari sel imobil.



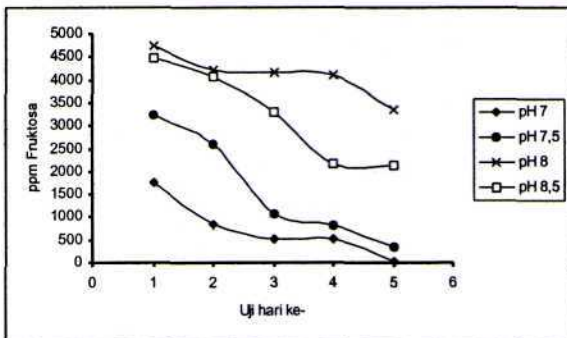
Gambar 3. Stabilitas GI dari sel imobil pada variasi konsentrasi gelatin



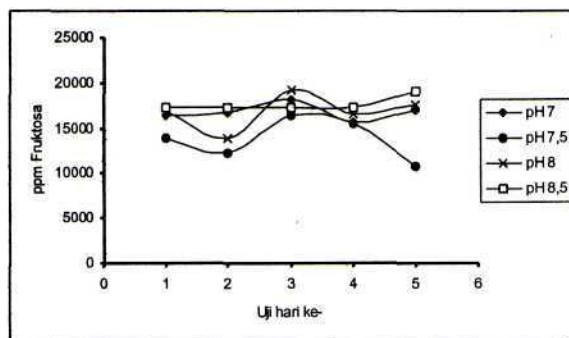
Gambar 4. Pengaruh pH substrat terhadap aktivitas GI dari sel bebas dan sel imobil



Gambar 5a. Stabilitas GI dari sel imobil pada perlakuan gelatin 5% dan 3 jam isomerisasi



Gambar 5b. Stabilitas GI dari sel bebas



Gambar 5c. Stabilitas GI dari NOVO Sweetzyme T

KESIMPULAN

Dari penelitian ini dapat diperoleh beberapa butir kesimpulan sebagai berikut:

1. Aktivitas GI optimal yang dapat dicapai *Arthrobacter* sp. NRRL-B 3728 sebesar 0,603 U per ml broth pada jam ke 72 di saat pertumbuhan sel pun mencapai tingkat optimal sehingga waktu pemanenan yang baik dapat dilakukan mulai jam ke 56 yang sudah mencapai aktivitas GI sebesar 0,515 U per ml broth.
2. Pada konsentrasi gelatin 5% dihasilkan aktivitas GI dari sel imobil yang optimum yaitu sebesar 0,888 U per gram sel imobil. Demikian pula stabilitas aktivitas GI dari sel imobil cenderung lebih optimal pada konsentrasi gelatin 5%.
3. Pada substrat glukosa pH 8, aktivitas GI dalam bentuk sel bebas dan sel imobil mencapai optimum masing-masing sebesar 7,298 U per gram sel basah dan 2,599 U per gram sel imobil pada proses isomerisasi. Sel dalam bentuk imobil dengan konsentrasi gelatin 5% ternyata tidak mengakibatkan terjadinya perubahan pH optimum. Tetapi proses imobilisasi ternyata merubah sensitifitas enzim GI terhadap perubahan pH. Aktivitas GI dalam bentuk sel bebas terlihat lebih stabil dibandingkan dengan sel imobil.

DAFTAR PUSTAKA

- Bhosale SH, MB Rao and VV Deshpande. 1996. Molecular and industrial aspects of glucose isomerase. *Microbial Reviews*.
- Chibata I. 1978.** *Immobilized enzymes Research and Development*. Kodansha, Tokyo.
- Devos, Francis, Leroy, Patrick, Huchette and Michel. 1979. Insoluble enzymatically active particles. *United States Patent* Via. 4,163,691.
- Hutasoit GF. 1985. Isolation, purification, characterization and immobilization of glucose isomerase of *Bacillus coagulans* and *B. stearothermophilus*. *Ph.D Thesis*. Los Banos University. Philippines.
- Hutasoit GF. 1995. Mikroorganisme, sifat-sifat dan teknologi glukosa isomerase. *Bulletin Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia Nomor 141*.
- Kartasmita S. 1999. Visi ke depan industri gula nasional. *Prosiding Seminar Nasional Industri Gula Terpadu*. Dewan Riset Nasional-Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia - Ikatan Ahli Gula Indonesia.
- Katchalski E and Katzir. 1993. *Immobilized Enzymes - Learning from Past Successes and Failures*. Elsevier, United Kingdom.
- Knorr D and Basel. 1987.** *Immobilized of Microbial and Cultured Plant Cell*. Marcell Dekker, New York.
- Kurniawan Y. 1998. Prospektif sirup fruktosa sebagai pemanis alternatif. *Gula Indonesia XXIV* (1), 32-37.
- Lee CK, LE Heyes and ME Long. 1972. Process of preparing glucose isomerase. *United States Patent* No.3,645,848.
- Olson NF and T Richardson. 1974. Immobilized enzymes in food processing and analysis. *Journal of Food Science* 39,653-657.
- Pelczar MJ and RD Reid, 1958. *Microbiology*. McGraw Hill, New York.
- Said EG 1987.** *Bioindustri - Penerapan Teknologi Fermentasi*. Mediatama Sarana Perkasa. Jakarta.
- Susmiadi A. 1996. Pertumbuhan industri HFS dan dampaknya terhadap perdagangan gula dunia. *Gula Indonesia XXI* (1), 45-60.
- VolkWA and MF Wheeler. 1993. Dalam: Adisoemarto S. *Mikrobiologi Dasar*, Erlangga Jakarta.